

BÚSQUEDA Y AISLAMIENTO DE *Staphylococcus* METICILINO-RESISTENTES EN DIFERENTES ESPECIES ANIMALES DE LA REPÚBLICA ARGENTINA

Vigo G¹, Giacoboni G², Cappuccio J³, Pantozzi F², Ibar M², Perfumo C³.

¹Cátedra de Microbiología, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional de La Plata, CC: 296, La Plata (1900), Buenos Aires. ²Labortorio de Diagnóstico e Investigaciones Bacteriológicas, FCV-UNLP. ³Cátedra de Patología Especial, FCV-UNLP.

RESUMEN:

Se analizaron un total de 226 aislamientos de *Staphylococcus* aislados de bovinos, caninos, equinos, conejos, gallinas y porcinos de diferentes regiones de la República Argentina para la búsqueda de *Staphylococcus* meticilino-resistente. Se hallaron: 1 cepa de *Staphylococcus pseudointermedius* aislado de canino, 5 *Staphylococcus sciuri*, 3 *Staphylococcus lentus*, 1 *Staphylococcus saprophyticus* subespecie *saprophyticus* y 13 *Staphylococcus* coagulasa negativos a los que no se les pudo determinar la especie, aislados de porcinos que fueron todos meticilino-resistentes. Este es el primer informe de los mismos en nuestro país.

INTRODUCCIÓN

El género *Staphylococcus* (*S*) pertenece a la familia *Staphylococaceae*. Incluye a los cocos Gram positivos, catalasa positivos, aerobios facultativos. Son parte de la microbiota normal de la piel y superficies mucosas del tracto respiratorio, digestivo superior y urogenital de mamíferos y aves. Son fácilmente diseminados entre animales, y bajo ciertas condiciones a los humanos por contacto con la piel o excreciones como la saliva, o aerosoles producidos en los estornudos o la tos. Además, los *Staphylococcus* pueden ser diseminados por productos animales como la leche no pasteurizada. Cuando logran entrar en tejidos profundos como consecuencia del rascado o heridas por mordeduras, quemaduras o infestaciones parasitarias, miembros de varias especies de *Staphylococcus*, incluyendo los que son referidos como patógenos potenciales, principalmente los coagulasa negativos,

pueden causar una amplia variedad de procesos piogénicos en diferentes localizaciones en animales y humanos (1). Una propiedad notable de *Staphylococcus* es la habilidad de tornarse resistente a los antimicrobianos (2). La resistencia a la meticilina es de particular relevancia porque es conferido por la presencia del gen *mecA*, que confiere una baja afinidad para todos los antimicrobianos beta-lactámicos. El gen *mecA* reside en un cassette cromosomal de *Staphylococcus* (SCCmec). Hasta el momento se han detectado 5 diferentes cassettes: tipo I, II, III, IV y V (3).

El objetivo del trabajo fue detectar la presencia de aislamientos del género *Staphylococcus* resistentes a la meticilina en diferentes especies animales de la República Argentina.

MATERIALES Y MÉTODOS

Aislamientos bacterianos:

Bovino: 103 aislamientos de *S. aureus* aislados de cuartos mamarios en el periodo 1997-2011. Fueron identificados a través de pruebas bioquímicas y fisiológicas que se detallan posteriormente.

Canino: 39 aislamientos de *S. pseudointermedius* (2004-2013), 6 aislamientos de *S. aureus* (2004-2011) y 6 aislamientos de *S. schleiferi coagulans* (2004-2013) aislados de diferentes infecciones.

Conejo: 1 aislamiento de *S. aureus* de pulmón (2005).

Equino: 1 aislamiento de *S. aureus* de útero (2008).

Gallinas: 5 aislamientos de *S. aureus* de articulaciones (2005-2011).

Porcino: 27 aislamientos de *S. aureus* aislados de: linfonódulo, pulmón,

absceso periarticular, absceso subcutáneo y médula ósea (2004-2009), en un establecimiento de Buenos Aires.

Estudio transversal: se tomaron 110 hisopados nasales de porcinos en la etapa de maternidad, cría y terminación en 2 establecimientos, uno de la provincia de Buenos Aires y el otro localizado en Santa Fe (2010). Cada hisopo fue colocado en un caldo de enriquecimiento: caldo tripticasa soya (30 gramos), cloruro de sodio (40 gramos), manitol (10 gramos), rojo de fenol (16 gramos), ceftriaxona (5 miligramos), CSP: 1000 mililitros. Se incubó a 37°C por 24 horas. Se tomó una ansada del caldo de enriquecimiento y se sembró en una placa de agar sangre, se incubó a 37°C por 24 horas, y se repicaron como máximo 3 colonias sospechosas a un agar tritricasa soya, se incubaron a 37°C por 24 horas y se les realizó: coloración de Gram, catalasa, coagulasa, Voges-Proskauer, urea, arabinosa, celobiosa, maltosa, lactosa, manosa, xilosa, trealosa, rafinosa, sacarosa, manitol, oxidasa y PYR (4).

Estudio longitudinal: se tomaron 25 hisopados nasales a porcinos de 21 días de edad en un establecimiento de la provincia de Buenos Aires en los meses de junio, julio, septiembre y noviembre del 2011. Se utilizó la misma metodología que en el estudio transversal.

Todas las cepas aisladas fueron conservadas en caldo cerebro corazón mas 30% de glicerol a -70°C hasta el momento del estudio.

Antibiograma: se realizó por la técnica de difusión en agar según normas del Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI, USA) (5). Se utilizaron discos de oxacilina (1µg) y cefoxitina (30µg) (Laboratorio Britania, Buenos Aires, Argentina)

Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR): se utilizó una PCR multiplex para la amplificación de los tipos de elementos mec de *Staphylococcus* (SCC mec type) según el método de Oliveira y Lencastre (5).

Resultados: No se encontraron *S. aureus* ni *S. schleiferi* *coagulans* meticilino-resistentes. Un aislamiento de *S.*

pseudointermedius aislado de otitis canina en el año 2010 fue meticilino-resistente fenotípicamente. En el estudio transversal realizado en el año 2010 en porcinos se encontraron 3 aislamientos meticilino-resistentes fenotípicamente, 2 *S. sciuri* y 1 *S. saprophyticus saprophyticus*. En el estudio longitudinal realizado en el año 2011 se obtuvieron 35 aislamientos de *Staphylococcus* meticilino-resistentes fenotípicamente, 3 fueron identificados como *S. sciuri* y 3 como *S. lentus* a los cuales se les determinó por PCR la presencia del gen *mecA* y portaban el cassette tipo IV (SCC mec Type IV). Los 29 aislamientos restantes no pudieron ser identificados a nivel de especie, fueron coagulasa negativos y todos meticilino-resistentes fenotípicamente.

DISCUSIÓN

Los *Staphylococcus* de origen animal exhiben resistencia a diferentes agentes antimicrobianos. La resistencia de estos varía ampliamente de acuerdo a la especie animal y a las especies del género *Staphylococcus*. Es difícil, si no imposible, comparar los datos disponibles de los numerosos trabajos realizados sobre el tema debido a que no existe una uniformidad en los métodos aplicados, el criterio utilizado para la validación de los resultados, y a la frecuente falta de datos sobre la relación epidemiológica de los aislamientos analizados.

No se encontraron *S. aureus* meticilino-resistentes (MRSA) en este estudio. Una cepa de *S. pseudointermedius* aislado de canino fue resistente a la meticilina, según nuestra búsqueda bibliográfica, esta es la primera descripción en nuestro país. En porcinos se hallaron cepas meticilino-resistentes en *Staphylococcus* coagulasa negativos (MRCoN), siendo el primer hallazgo en esta especie animal en nuestro país (6). En algunos países la prevalencia de MRSA en porcinos y otros animales es elevada (EEUU, Alemania, etc.) y en otros países no se han aislado MRSA pero si MRCoN (Dinamarca, Eslovenia, etc.) (7). Se necesitan realizar o

continuar con este tipo de estudios en nuestro país para poder determinar cuál es la situación actual en nuestro medio.

BIBLIOGRAFÍA:

1. Kloos W. Natural populations of the genus *Staphylococcus*. Annu. Rev. Microbiol. 1980, 34:559-592.
2. Werckenthin C, Cardoso M, Martel J, Schwarz S. Antimicrobial resistance in staphylococci from animals with particular deference to bovine *Staphylococcus aureus*, porcine *Staphylococcus hyicus* and canine *Staphylococcus intermedius*. Vet. Res. 2001, 32:341-362.
3. Ito T, Ma X, Takeuchi F, Okuma K, Yuzama H, Hiramatsu K. Novel type V Staphylococcal cassette chromosome mec driven by a novel cassette chromosome recombinase, ccrC. Antimicrob. Agents Chemother. 2004, 48:2637-2651.
4. Koneman E, Allen S, Janda W, Schreckenberger P, Winn W. Cocos Gram positivos: parte I: Estafilococos y microorganismos relacionados. En: Koneman E, Allen S, Janda W, Schreckenberger P, Winn W, editors. Diagnóstico Microbiológico. Buenos Aires, Editorial Médica Panamericana, 1999, p. 527-562.
5. Oliveira D, Lencastre H. Multiplex PCR strategy for rapid identification of structural types and variants of the *mec* element in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. Antimicrob. Agents Chemother. 2005, 51:2155-2161.
6. Giacoboni G, Vigo G, Moldes S, Cappuccio J, Perfumo C, Ramírez S, Centrón D. Presencia de *Staphylococcus* metilino-resistentes en cerdos criados en forma intensiva. XII Congreso Argentino de Microbiología, VI Congreso de la Asociación de Bacteriología, Micología y Parasitología Clínica (SA-DABEC). 17 al 20 de octubre de 2010, Buenos Aires.
7. Weese J, van Duijkeren E. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus pseudointermedius* in veterinary medicine. Vet. Microbiol. 2010, 140:418-429.